

# Perspektywy rozwoju strategii terapeutycznych opartych na TRAIL i jego analogach w hematoonkologii

## Perspectives of TRAIL and its analogs-based therapeutic strategies in hematooncology

Karolina Piechna, Przemysław Juszczyński

Zakład Hematologii Eksperymentalnej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

### Streszczenie

*TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand), białko należące do nadrodziny czynnika martwicy nowotworów, wywołuje apoptozę w komórkach nowotworowych, zachowując stosunkowo niską toksyczność wobec komórek niestransformowanych. Strategie terapeutyczne oparte na wykorzystaniu TRAIL lub jego analogów wykazują zwykle wysoką aktywność w modelach in vitro i przedklinicznych modelach in vivo. W badaniach klinicznych TRAIL i jego analogi charakteryzowały się niską toksycznością i z reguły były dobrze tolerowane, ale cechowała je niską skuteczność. Głównym ograniczeniem wykorzystania TRAIL w terapii jest pierwotna lub wtórna oporność komórek na indukowaną przez TRAIL apoptozę, wywoływana przez różne mechanizmy. Ponieważ część mechanizmów oporności może być modulowana farmakologicznie, to stanowią one potencjalny cel terapii łączonych uwrażliwiających na apoptozę zależną od receptorów śmierci. W pracy przedstawiono przegląd badań przedklinicznych i klinicznych, w których wykorzystywano terapie oparte na TRAIL lub jego analogach oraz perspektywy rozwoju takich strategii opartych na farmakologicznej modulacji mechanizmów oporności.*

**Słowa kluczowe:** TRAIL, receptory śmierci, DR4, DR5, mechanizmy oporności, apoptoza

*Hematologia 2019; 10, 3: 148–160*

### Abstract

*TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand), member of the tumor necrosis factor superfamily, is known for its strong antitumor activity in many types of cancer cells, while exhibiting relatively low cytotoxicity to most normal cells. Therapeutic strategies utilizing TRAIL or its analogs usually exhibit high activity in preclinical in vitro and in vivo models. In clinical trials, TRAIL and its analogs were generally well tolerated, but, surprisingly, exhibited low activity. Major limitation of TRAIL-based therapies is intrinsic or secondary resistance to apoptosis induction, mediated by a plethora of diverse mechanisms. However, as at least a fraction of these resistance mechanisms are amenable for pharmacological modulation, they represent rational targets for combination therapies synergizing with TRAIL. Herein, we review the preclinical and clinical trials based on combination of pharmaceuticals synergizing with TRAIL or TRAIL analogs and discuss the prospects of development of such strategies.*

**Key words:** TRAIL, death receptors, DR4, DR5, resistance mechanisms, apoptosis

*Hematologia 2019; 10, 3: 148–160*

**Adres do korespondencji:** Przemysław Juszczyński, Zakład Hematologii Eksperymentalnej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indyry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel. 22 349 64 77, faks 22 34 96 237, e-mail: pjuszczyński@ihit.waw.pl

## Wprowadzenie

Białko należące do nadrodziny czynnika martwicy nowotworów (TNF, *tumor necrosis factor*), jakim jest TRAIL/Apo-2L (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*)/(*apoptosis ligand 2*) [1, 2], wywołuje apoptozę w komórkach nowotworowych, przy stosunkowo niskiej toksyczności w stosunku do komórek niestransformowanych [3, 4]. Wiązanie ligandu TRAIL do specyficznego receptora komórkowego prowadzi do rekrutacji białek tworzących kompleks sygnałowy indukujący śmierć komórki (DISC, *death inducing signaling complex*) [5] i aktywacji proteolitycznej kaskady sygnałowej [6]. Zewnątrzpochodna ścieżka apoptozy, którą obserwuje się w tak zwanych komórkach typu I (m.in. w limfocytach), wymaga aktywacji przez kaspazę 8/10 kaspaz wykonawczych — 3, 6 i 7, które degradują białka wewnątrzkomórkowe niezbędne do utrzymania integralności komórki [7]. Podczas wewnątrzpochodnej (mitochondrialnej) ścieżki apoptotycznej (w komórkach typu II) białko zawierające domenę BH3 hamującą BCL2 (BID, *BCL2 inhibitory BH3-domain containing protein*), aktywowane przez kaspazę 8, indukuje białka permeabilizujące zewnętrzną błonę mitochondrialną. Następuje uwolnienie czynników apoptotycznych, formowanie apoptosomu i aktywacja kaspaz wykonawczych [8, 9].

Ta ogólna charakterystyka stawia układ ligando-receptorowy TRAIL w obszarze zainteresowań badaczy i klinicystów poszukujących nowych, skutecznych i nietoksycznych terapii przeciwnowotworowych. W wielu badaniach przedklinicznych i klinicznych z wykorzystaniem tej cząsteczki lub jej analogów wskazuje się istotnie na ich niską toksyczność, ale również na ograniczoną skuteczność takiego postępowania. Brak efektywnego działania TRAIL był zwykle spowodowany zróżnicowanymi mechanizmami zaburzającymi wywołanie sygnałów apoptotycznych, ich przewodzenie i samą fazę efektorową apoptozy. Wśród mechanizmów oporności na TRAIL można wyróżnić te związane z niską ekspresją receptorów śmierci na powierzchni komórek oraz związane z ekspresją białek zaangażowanych w przewodzenie sygnału apoptotycznego lub go hamujące. Na skuteczność działania TRAIL mogą wpływać także procesy metaboliczne komórek, w tym autofagia. Część z tych mechanizmów może być modulowana farmakologicznie, budząc nadzieje na zwiększenie skuteczności tych strategii opartych na terapiach kojarzących modulatory oporności z ligandami TRAIL lub ich analogami.

## TRAIL i jego analogi

Efektywne działanie cytotoksyczne TRAIL wymaga wysokiego stężenia i długiego okresu działania [10]. Natywny TRAIL ma jednak krótki okres półtrwania w osoczu w związku z szybką degradacją [3, 4], co powoduje, że jego wykorzystanie kliniczne, ze względu na tę suboptymalną farmakokinetkę, może być ograniczone. W związku z tymi ograniczeniami powstały liczne rekombinowane analogi i mimetyki TRAIL, różniące się od siebie budową i charakterystyką, których bezpieczeństwo i aktywność testowano w badaniach klinicznych (tab. 1). Przeciwciała monoklonalne anty-DR4 i DR5 (przeciw receptorom śmierci 4 i 5 [*death receptors 4 and 5*]) wiążą się wybiórczo ze specyficznym receptorem w komórkach nowotworowych, natomiast rozpuszczalny TRAIL oddziałuje zarówno z DR4 i DR5, jak i z receptorami wabikami (*decoy receptors*), które wiążą TRAIL, ale nie przekazują sygnału apoptotycznego. Białko TRAIL może zatem wykazywać szersze, ale też mniej przewidywalne działanie w porównaniu z przeciwciałami [11]. Rozpuszczalny ludzki rekombinowany TRAIL ([rhTRAIL, *recombinant human TRAIL*] dulanermina), przeciwciała monoklonalne przeciwko DR4 — mapatumumab — oraz przeciwciała monoklonalne przeciwko DR5 — leksatimumab, conatumumab, tigatuzumab oraz drozitumab — testowano w badaniach klinicznych [12–18]. Do analogów TRAIL należą także białka fuzyjne (ABBV-621 i SBC-313), które ze względu na swoją budowę pozwalają na wydajne sieciowanie błonowych receptorów śmierci i maksymalizację generowanego przez nie sygnału. W badaniach przedklinicznych wykazały one wysoką aktywność apoptotyczną w ostrej białaczce szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*) i w chłoniaku rozlanym z dużych komórek B (DLBCL, *diffuse large B-cell lymphoma*) [19]. Trwają badania kliniczne z zastosowaniem ABVV-621 i SBC-313 (NCT03082209, NCT04051112).

W związku z często odnotowywaną opornością na indukowaną przez TRAIL apoptozę podejmowano także próby kliniczne stosowania połączeń analogów TRAIL z innymi lekami. Terapie skojarzone z użyciem ligandów receptorów śmierci ogólnie były dobrze tolerowane, ale ich skuteczność pozostawała ograniczona (tab. 2). Należy zaznaczyć, że w większości przypadków badania kliniczne były oparte na połączeniach empirycznych. Nie uwzględniano w nich swoistych mechanizmów oporności na TRAIL, które mogłyby być modulowane farmakologicznie. Nie przewidywano również

**Tabela 1.** Analogi białka TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) testowane w badaniach klinicznych. Informacje zawarte w tabeli pochodzą ze strony [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)

Nazwa	Rodzaj analogu
Dulanermina/rhTRAIL/AMG-951	Rekombinowany TRAIL
Mapatumumab/TRM-1/HGS-ETR1	Przeciwciało monoklonalne TRAIL-R1/DR4
Tigatuzumab/CS-1008	Przeciwciało monoklonalne anty-TRAIL-R2/DR5
Conatumumab/AMG-655	Przeciwciało monoklonalne anty-TRAIL-R2/DR5
Leksatumumab/HGS-ETR2	Przeciwciało monoklonalne anty-TRAIL-R2/DR5
Drozitumab/PRO95780	Przeciwciało monoklonalne anty-TRAIL-R2/DR5
ABBV-621	Białko fuzyjne
SBC-313	Białko fuzyjne

rhTRAIL (*recombinant human TRAIL*) — ludzki rekombinowany TRAIL; R1 — receptor 1; R2 — receptor 2; DR4 (*death receptor 4*) — receptor śmierci 4; DR5 (*death receptor 5*) — receptor śmierci 5

zastosowania swoistych biomarkerów racjonalizujących połączenia wybranych leków do badań.

### Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z chemioterapią i radioterapią

Najprostszą strategią z klinicznego punktu widzenia jest skojarzenie konwencjonalnych chemioterapeutyków z TRAIL lub jego analogami. Ponieważ leki cytostatyczne/cytotoksyczne mogą wywoływać wiele mechanizmów prowadzących do większej wrażliwości na TRAIL (np. aktywacja p53), to postępowanie takie jest biologicznie uzasadnione i nie ma charakteru czysto empirycznego [20], pod warunkiem zachowania funkcjonalności szlaku p53. Aktywacja dzikiego p53 zwiększa ekspresję receptorów śmierci [21] i prowadzi do indukcji białek z domeną BH3, takich jak PUMA, które indukuje apoptozę na szlaku wewnątrzpochodnym [22]. Z taką odpowiedzią współdziała białko zawierające domenę BH3 hamujące BCL2 (BID, *BCL2 inhibitory BH3-domain containing protein*), aktywowane przez kaspazę 8 w wyniku wiązania TRAIL [23]. Ponieważ szlak p53 należy do najczęściej inaktywowanych w nowotworach człowieka — zarówno poprzez delecje 17p i mutacje *TP53*, jak i poprzez aberracje strukturalne innych białek uczestniczących w regulacji p53 i transmisji sygnału zależnego od aktywacji p53 (m.in. MDM2, ATM, ATR) [24–27] — racjonalne stosowanie takich połączeń wymaga przynajmniej oceny integralności chromosomu 17p i stanu mutacji *TP53*. Alternatywnie, chemioterapia może hamować ścieżkę czynnika jądrowego  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B, *nuclear factor  $\kappa$ B*), od której zależy między innymi ekspresja czynnika transkrypcyjnego YY1 (*Ying Yang 1*), represora DR5 [28].

W badaniach przedklinicznych 5-fluorouracyl w opornych na TRAIL komórkach raka wątrobo-

wokomórkowego (HCC, *hepatocellular carcinoma*) zwiększał ekspresję DR5 i obniżał ekspresję cFLIP (*cellular FLICE-like inhibitory protein*), przez co przywracał wrażliwość na działanie tego ligandu [29]. Ekspozycja komórek raka prostaty PC-3 na działanie różnych chemioterapeutyków istotnie zwiększała ekspresję DR5 na powierzchni i uwrażliwiała na TRAIL. Przynajmniej w odniesieniu do niektórych cytostatyków (m.in. cysplatyna i etopozyd) indukcja DR5 wynikała z hamowania ekspresji YY1, represora DR5 [28]. Na powinowactwo TRAIL do receptorów śmierci może wpływać ich stopień glikozylacji [30]. Zgodnie z tą zależnością w badaniu klinicznym u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC, *non-small cell lung carcinoma*) z zastosowaniem dulanerminy (rhTRAIL) w terapii skojarzonej z paklitaksem i/lub karboplatiną i bewacyzumabem obserwowano tendencję do wydłużenia czasu przeżycia wolnego od progresji i całkowitego czasu przeżycia u chorych z wysoką ekspresją glikozylotransferaz [30]. W innych badaniach I fazy stosowano mapatumumab z taksanami (paklitaksel) lub karboplatiną oraz mapatumumab z gemcytabiną lub cisplatyną i obserwowano brak zwiększonej toksyczności kombinacji u pacjentów z nowotworami litymi [31, 32]. W badaniach z zastosowaniem tigatuzumabu w połączeniu z karboplatiną i paklitaksem tigatuzumab nie poprawił efektywności terapii u chorych na NSCLC [33]. Conatumumab z gemcytabiną były dobrze tolerowane przez chorych na raka trzustki, ale w badanej grupie nie obserwowano istotnego wydłużenia całkowitego czasu przeżycia [34].

Synergistycznie z TRAIL może działać także radioterapia. W wyniku uszkodzeń DNA następuje zależne od p53 zwiększenie ekspresji DR4 i DR5, co tłumaczy wzrost wrażliwości komórek na TRAIL [35, 36]. Radioterapia, w przeciwieństwie do apo-

**Tabela 2.** Badania kliniczne terapii skojarzonych z użyciem ligandu receptorów TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*); dulanermina — rhApo2L/TRAIL; mapatumumab — przeciwciało monoklonalne anty-DR4; leksatumumab, conatumumab, tigatuzumab, drozitumab — przeciwciała monoklonalne anty-DR5. Informacje zawarte w tabeli pochodzą ze strony [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)

TRAIL-R ligand	Typ leku	Nazwa leku	Typ nowotworu	Numer referencyjny	Faza	Uwagi
Dulanermina	Przeciwciało anty-CD20	Rytuksymab	Chłoniak nie-Hodgkina (NHL)	NCT00400764	Faza Ib/II	Substancje dobrze tolerowane, brak zwiększonej efektywności leczenia
	Chemioterapia, przeciwciało wiążące naczyniowy czynnik wzrostu	<i>Camptosar</i> <sup>®</sup> /Eribitux <sup>®</sup> FOLFIRI ( <i>Camptosar</i> <sup>®</sup> , 5-FU, leukoworyna) ± bewacyzumab	Rak jelita grubego	NCT00671372	Faza Ib	
	Chemioterapia, przeciwciało wiążące naczyniowy czynnik wzrostu	FOLFOX ± bewacyzumab	Rak jelita grubego	NCT00873756	Faza Ib	
	Lek cytotstatyczny, przeciwciało wiążące naczyniowy czynnik wzrostu	Karboplatyna, paklitaksel ± bewacyzumab	NSCLC	NCT00508625	Faza II	Tendencja w kierunku polepszonej przeżywalności u pacjentów z wysoką ekspresją GaIN14
Mapatumumab	Inhibitor kinaz	Sorafenib	HCC	NCT01258608	Faza II	Substancje dobrze tolerowane, brak zwiększonej efektywności leczenia
	Inhibitor proteasomu	Bortezomib	Szpiczak plazmocytowy	NCT00315757	Faza II	
	Lek cytotstatyczny, napromienianie	Cisplatyna, radioterapia	Rak szyjki macicy	NCT01088347	Faza Ib/II	
	Inhibitor kinaz	Sorafenib	HCC	NCT00712855	Faza I	
Leksatumumab	Lek cytotstatyczny	Paklitaksel, karboplatyna	NSCLC	NCT00583830	Faza II	Substancje dobrze tolerowane, brak zwiększonej efektywności leczenia
	Cytokina	Interferon gamma 1b	Guzy lite	NCT00428272	Faza I	
	Chemioterapia, przeciwciało wiążące naczyniowy czynnik wzrostu	FOLFOX6, ganitumab, bewacyzumab	Guzy lite, rak jelita grubego, chłoniak, NSCLC	NCT01327612	Faza II	
	Mimetyk SMAC/inhibitor IAP	Birinapant	Rak jajnika	NCT01940172	Faza I	
Conatumumab	Przeciwciało anty-EGFR	Panitumumab	Rak jelita grubego	NCT00630786	Faza Ib/II	
	Lek cytotstatyczny, radioterapia	Kapcytabina, gemcytabina, hydrochlorek, radioterapia	Rak trzustki	NCT01017822	Faza I/II	
	Chemioterapia, przeciwciało anty-IGF-IR	FOLFIRI, AMG 479	Rak jelita grubego	NCT00813605	Faza II	

↑

**Tabela 2 (cd.).** Badania kliniczne terapii skojarzonych z użyciem ligandu receptorów TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*); dulanermina — rhApo2L/TRAIL; mapatumumab — przeciwciała monoklonalne anti-DR4; lekstatumumab, conatumumab, tigatuzumab, drozitumab — przeciwciała monoklonalne anti-DR5. Informacje zawarte w tabeli pochodzą ze strony [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)

TRAIL-R ligand	Typ leku	Nazwa leku	Typ nowotworu	Numer referencyjny	Faza	Uwagi
(cd.) Conatumumab	Lek cytostatyczny	Doksorubicyna	Mięsak tkanek miękkich	NCT00626704	Faza Ib/II	
	Inhibitor epigenetyczny, inhibitor proteasomu	Worinostat, bortezomib	Chłoniak	NCT00791011	Faza Ib	Wstępne wyniki ukazują działanie przeciwnowotworowe w postaci zmniejszenia guzów i braku progresji choroby
	Przeciwciała anti-IGF-IR, lek cytostatyczny	AMG 479, gemcytabina	Rak trzustki	NCT00630552	Faza I/II	Substancje dobrze tolerowane, tendencja w kierunku lepszej przeżywalności 6-miesięcznej
	Chemioterapia, przeciwciała wiążące czynnik wzrostu	FOLFIRI, AMG 479	Rak jelita grubego	NCT00813605	Faza II	
	Chemioterapia, przeciwciała wiążące naczyniowy czynnik wzrostu	mFOLFOX6, bewacyzumab	Rak jelita grubego	NCT00625651	Faza Ib/II	
Tigatuzumab	Lek cytostatyczny	Paklitaksel, karboplatyna	NSCLC	NCT00534027	Faza Ib/II	Substancje dobrze tolerowane, brak zwiększonej efektywności leczenia
	Przeciwciała anti-IGF-IR	AMG 479	Guzy lite	NCT00819169	Faza Ib/II	Substancje dobrze tolerowane, brak zwiększonej efektywności leczenia
Droazitumab	Lek cytostatyczny	Paklitaksel	Rak piersi	NCT01307891	Faza II	
	Przeciwciała anti-CD20	Rytuksymab	Chłoniak nie-Hodgkina (NHL)	NCT00517049	Faza II	
	Chemioterapia, przeciwciała wiążące naczyniowy czynnik wzrostu	Bewacyzumab, karboplatyna, paklitaksel	NSCLC	NCT00480831	Faza II	
	Przeciwciała wiążące naczyniowy czynnik wzrostu, lek cytostatyczny, chemioterapia	Bewacyzumab, cetuksymab, FOLFIRI, irynotekan	Rak jelita grubego	NCT00497497	Faza I	
	Przeciwciała wiążące naczyniowy czynnik wzrostu, chemioterapia	Bewacyzumab, FOLFOX	Rak jelita grubego	NCT00851136	Faza I	

rhApo2L — recombinant human apoptosis ligand 2; DR4 (death receptor 4) — receptor śmierci 4; DR5 (death receptor 5) — receptor śmierci 5; NHL — non-Hodkin lymphoma; 5-FU (5-fluorouracil) — 5-fluorouracyl; NSCLC (non-small cell lung carcinoma) — niedrobnokomórkowy rak płuca; HCC (hepatocellular carcinoma) — rak wątrobowokomórkowy; SMAC — second mitochondria-derived activator of caspases; IAP (inhibitor of apoptosis proteins) — białka z rodziny inhibitora apoptozy



ptozy indukowanej ligandami receptorów śmierci, indukuje przede wszystkim ścieżkę wewnątrzpodchorodną apoptozy [37]. W związku z aktywacją innych ścieżek apoptozy komórki połączenie radioterapii z TRAIL może powodować wzmocnioną odpowiedź [35]. Badania kliniczne z udziałem chorych na raka szyjki macicy, w których jest oceniana efektywność mapatumumabu w połączeniu z cisplatyną i radioterapią, są w toku (NCT01088347).

### **Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z mimetykami BH3**

Ze względu na powszechną cechę komórek nowotworowych, jaką jest nadekspresja białek antyapoptotycznych z rodziny BCL2 (*B-cell leukemia/lymphoma 2*) i ich rolę w indukowaniu oporności na TRAIL, inhibitory białek tej rodziny (m.in. AT-101, ABT-263, ABT-737, GX-15-070/obatoklaks i ABT-199/wenetoklaks) [38] mogą stanowić racjonalny mechanizm uwalniający. Obatoklaks uwalnia komórki na TRAIL poprzez uwalnianie BAK (*BCL2 antagonist killer 1*) i BIM (*Bcl-2 like protein 11*) z kompleksu z MCL1 (*myeloid cell leukemia-1*) lub BCL2/BCL-XL [39, 40]. ABT-737 nasila apoptozę po zastosowaniu TRAIL, niezależnie od ekspresji MCL1, ale wymaga ekspresji BAX (*BCL2 associated X protein*). Związek ten wpływa również na zwiększenie ekspresji DR5 [41]. W komórkach linii raka sutka inkubowanej z AT-101 obserwowano wzrost ekspresji DR4 i DR5 oraz zwiększoną wrażliwość na działanie TRAIL [42]. W liniach HCC ABT-263 współdziałał z TRAIL, obniżając ekspresję białek z rodziny BCL2 [43]. Gossypol (związek pochodzenia roślinnego o właściwościach inhibitorowych wobec niektórych białek rodziny BCL2) wraz z TRAIL indukował apoptozę w komórkach raka płuca, przełyku i opłucnej, a efekt ten był hamowany przez selektywną inhibicję kaspazy 9 [44]. Komórki chłoniaka z komórek płaszczu z nabytą opornością na wenetoklaks stały się odporne na TRAIL, w przeciwieństwie do linii komórkowej, z której się wywodziły. Obserwowano w nich podwyższoną ekspresję białka MCL1 oraz niższą ekspresję białka BIM (*Bcl-2 interacting mediator of cell death*) [45]. Trwają badania kliniczne I fazy z wykorzystaniem ligandu receptorów śmierci ABBV-621 i wenetoklaksu w nowotworach hematologicznych i litych (NCT03082209).

### **Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z inhibitorami proteasomu**

Inhibitory proteasomu wpływają na zahamowanie degradacji licznych białek, w tym regulujących apoptozę, co powoduje, że ta grupa leków

wykazuje duży potencjał modulowania szlaku apoptozy regulowanej przez receptory śmierci [46]. Wywołana przez TRAIL aktywacja NFκB i działanie protekcyjne zależne od tego czynnika mogą być ograniczane poprzez hamowanie proteasomalnej degradacji inhibitora NFκB, IκBa [47, 48]. Co więcej, zablokowanie rozkładu nieprawidłowych białek powoduje ich akumulację w siateczce śródplazmatycznej (ER, *endoplasmic reticulum*) i prowadzi do aktywacji apoptozy poprzez indukcję odpowiedzi na białka niesfałdowane (UPR, *unfolded protein response*) [49]. W wyniku hamowania proteasomów może następować także akumulacja białek, które bezpośrednio promują apoptozę indukowaną przez TRAIL. Nagromadzenie receptorów TRAIL DR4 i DR5 w wyniku hamowania proteasomów, potencjalnie prowadzące do bardziej efektywnego formowania DISC i aktywacji kaspaz, obserwowano w wielu typach nowotworów [50–52]. Bortezomib poprzez zmniejszenie ekspresji BCL-XL i MCL1 oraz zwiększenie ekspresji receptorów śmierci przełamywał oporność komórek AML na TRAIL [53]. W dwóch opornych na TRAIL liniach komórkowych glejaka bortezomib wraz z TRAIL indukował zależną od kaspaz apoptozę i hamował aktywność NFκB [54]. Mimo dobrze udokumentowanego wpływu inhibitorów proteasomu na wrażliwość na TRAIL i jego analogi w badaniach przedklinicznych, w badaniach klinicznych leczenie mapatumumabem w połączeniu z bortezomibem nie powodowało wzrostu odsetka odpowiedzi i przeżycia bez progresji w porównaniu z leczeniem samym bortezomibem chorych na szpiczaka plazmocytozy [55]. Natomiast w pierwszej fazie badań klinicznych z zastosowaniem conatumumabu (AMG-655, przeciwciała monoklonalnego — ligandu DR5) i bortezomibem u chorych z nowotworami układu chłonnego leczenie to przyniosło zahamowanie progresji choroby i zmniejszenie masy guza u ponad 40% chorych [56]. Obserwacje te mogą wskazywać na odmienne właściwości obu receptorów i/lub przeciwciał i wymagają weryfikacji w badaniach kolejnych faz z udziałem większej liczby chorych.

### **Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z mimetykami SMAC**

Ze względu na silne działanie antyapoptotyczne białek z rodziny inhibitorów apoptozy (IAP, *inhibitor of apoptosis proteins*) hamowanie ich aktywności ma duży potencjał uwalniania na TRAIL. Inhibitorowe właściwości w stosunku do IAP wykazują naturalny SMAC (*second mitochondria-derived activator of caspases*) i jego mimetyki. Zależnie od

ich zdolności wiązania tylko domeny BIR2 (jak naturalny SMAC) lub także domeny BIR3 wyróżnia się związki mono- i biwaleńne [57]. Mimetyki SMAC, wiążąc cIAP-1 i cIAP-2, prowadzą do ich degradacji, w konsekwencji czego uwrażliwiają komórki na apoptozę indukowaną receptorami rodziny TNF [58, 59]. Hamowanie inhibitora apoptozy sprzężonego z chromosomem X (XIAP, *X-linked inhibitor of apoptosis protein*) promuje aktywację kaspazy 3 przez kaspazę 8 [7, 60].

Spośród związków monowaleńnych do badań klinicznych weszły między innymi LCL161 i Debio 1143 (AT-406), natomiast spośród biwaleńnych — birinapant. Chociaż mimetyki SMAC w badaniach klinicznych okazały się dobrze tolerowalne i bezpieczne, to w monoterapii przynoszą niewielkie efekty [58]. W związku z tym trwają poszukiwania skutecznych terapii skojarzonych. Syntetyczny SMAC zwiększa wrażliwość na TRAIL w wielu liniach komórek nowotworowych. Jednoczesne zastosowanie TRAIL lub TNF $\alpha$  oraz inhibitorów białek IAP powoduje głębokie regresje guza w modelach zwierzęcych w różnych typach nowotworów [61]. W modelu *in vivo* raka sutka po podaniu TRAIL i mimetyku SMAC SM-164 także obserwowano apoptozę komórek w tkance guza [62]. Inhibitory XIAP wraz z mapatumumabem prowadziły do apoptozy zależnej od kaspaz w komórkach raka trzustki [63], a *in vivo* powodowały hamowanie wzrostu guza [63]. Birinapant i AT-406 zwiększają wrażliwość komórek raka jelita grubego na TRAIL, a w wyniku ich działania obserwuje się cięcie kaspazy 3 i PARP (*poly (ADP-ribose) polymerase*) [64]. W związku z dużym potencjałem terapii skojarzonej mimetyku SMAC z ligandem receptora TRAIL ukończono już pierwszą fazę badań klinicznych dotyczących stosowania birinapantu z conatumumabem (NCT01940172) u chorych z nawrotem raka jajnika. Terapia jest dobrze tolerowana, a dalsze badania trwają.

### Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z lekami wpływającymi na modyfikacje epigenetyczne

Ekspresja białek biorących udział w regulacji przebiegu apoptozy w wielu nowotworach może być zaburzona na poziomie epigenetycznym. W związku z tym dużą uwagę jako potencjalne strategie modulacji oporności na TRAIL zyskały leki wpływające na te modyfikacje. W liniach czerniaka zastosowanie 5-aza-2'-deoksycytyny (5-AZAdC, *5-aza-2'-deoxycytidine*), czynnika demetylującego, powoduje ponad 3-krotny wzrost ekspresji DR4 i uwrażliwia na TRAIL i interferon [65]. Podobnie

w wyniku inkubacji komórek drobnokomórkowego raka płuca (SCLC, *small cell lung carcinoma*) z 5-AZAdC następuje częściowe przywrócenie ekspresji DR4, FAS i kaspazy 8 [66]. W liniach komórkowych raka tarczycy zastosowanie 5-AZAdC przywraca ekspresję genu supresorowego *TMS1 (target of methylation-mediated silencing)*, promującego aktywację kaspazy 8, i uwrażliwia komórki na TRAIL [67].

Deacetylazy histonów (HDAC, *histone deacetylases*) to enzymy, których funkcją jest usuwanie reszt acetylowych z  $\epsilon$ -N-acetylowanych lizyn histonów [68]. Zidentyfikowano także ponad 50 różnych niehistonowych substratów tych enzymów, włączając w to czynniki transkrypcyjne, takie jak: RUNX3, p53, E2F, c-Myc, NF $\kappa$ B [69]. Inhibitory HDAC powodują hiperacetylację histonów i białek niehistonowych i, co za tym idzie, zwiększoną transkrypcję genów [70]. Inhibitory te mogą zwiększać wrażliwość na apoptozę indukowaną przez TRAIL [71]. Niskie stężenia inhibitorów (depsypeptydu) uwrażliwiały komórki białaczkowe na TRAIL poprzez umożliwienie formowania DISC, prowadzącego do aktywacji kaspazy 8 [72]. Inkubacja komórek z zastosowaniem dacinostatu (pa-inhibitora HDAC) spowodowała wzrost ekspresji mRNA i białka DR4 i/lub DR5 oraz spadek ekspresji białka cFLIP [73]. Jednoczesne zastosowanie dacinostatu i TRAIL indukowało apoptozę w pierwotnych blastach izolowanych z krwi chorych na AML [73]. Entinostat, inhibitor HDAC klasy I/III — MS-275 — zmniejszał ekspresję c-FLIP i przełamывał oporność na TRAIL w komórkach czerniaka [74]. Inhibitory te przełamują oporność na TRAIL także w komórkach z niską ekspresją kaspazy 8 poprzez przywrócenie jej transkrypcji [75]. Mechanizm uwrażliwienia przez inhibitory HDAC może się także wiązać z wewnątrzpochodną (mitochondrialną) ścieżką apoptozy poprzez obniżanie ekspresji antyapoptotycznych białek z rodziny BCL2 [76]. Inkubacja komórek z zastosowaniem trichostatyny A i kwasu suberonylanilidehydroksamowego (SAHA, *suberoylanilidehydroxamic acid*; vorinostat) wzmacniało aktywację kaspazy 9, czemu towarzyszyły zmiany w ekspresji pro- i antyapoptotycznych białek — zwiększenie aktywacji BID, podwyższenie ekspresji BAX i obniżenie ekspresji BCL-XL [77–79].

W badaniach przedklinicznych leki wpływające na modyfikacje epigenetyczne obniżają próg apoptozy i uwrażliwiają na TRAIL. Są to jednak związki o działaniu pleiotropowym, co powoduje trudność w ustaleniu biomarkerów i przewidzeniu powodzenia terapii skojarzonej. Do tej pory ukończono pierwszą

fazę badań klinicznych z użyciem conatumumabu (AMG-655) i worinostatu u pacjentów z nowotworami układu chłonnego (NCT00791011). Terapię cechowała akceptowalna toksyczność, a wstępne wyniki świadczą o potencjalnej efektywności leczenia [56].

### **Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z inhibitorami endocytozy**

Endocytoza jest procesem, który może się przyczyniać do niższej ekspresji receptorów powierzchniowych na komórkach. Internalizacja receptorów śmierci może być przyspieszona przez wiązanie TRAIL [80], co sprzyja rozwojowi oporności [81, 82]. Co istotne, endocytoza receptorów śmierci nie jest konieczna do przekazania sygnału apoptotycznego [83]. Hamowanie endocytozy może się więc przyczyniać do większej wrażliwości na TRAIL i jego analogi.

Endocytoza DR4 i DR5 jest zależna od klatryny, opłaszczającej wpuklenia błony komórkowej, oraz dynaminy, małej GTP-azy odcinającej powstający pęcherzyk od błony [84]. Zdolność hamowania zależnej od klatryny endocytozy wykazuje wiele związków o odmiennym mechanizmie działania — w tym chloropromazyna (działająca m.in. jako inhibitor dynaminy) [85], cyklodekstryny i filipina (wyplukujące lub wiążące cholesterol błonowy, wpływające na elastyczność błony komórkowej i hamujące endocytozę zależną od klatryny) [86, 87], tlenek fenylarsyny (PAO, *phenylarsine oxide*; hamujący internalizację receptorów błonowych) [88] lub chlorochina (zaburzająca funkcję pęcherzyków klatrynowych) [85], bardziej swoiste inhibitory GTP-azowej aktywności dynaminy (dynasore, dynole, dyngo) [89–91] i antagoniści klatryny (pitstop2) [92].

W celu modulacji mechanizmów oporności zależnych od internalizacji receptorów śmierci odporne komórki raka sutka inkubowano z inhibitorami endocytozy: PAO, chloropromazyną lub filipiną, a następnie TRAIL. Z wyjątkiem wariantu z zastosowaniem filipiny w hodowli obserwowano nasiloną apoptozę komórek [88]. Chloropromazyna jest zarejestrowanym lekiem przeciwpachotycznym o znanym profilu bezpieczeństwa, w związku z czym może być wykorzystana w badaniach klinicznych.

### **Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z inhibitorami kinaz**

Nadmierna/konstytutywna aktywacja kinaz tyrozynowych jest typowym ogniwem rozwoju nowotworów, a konsekwencją ich aktywacji jest między innymi uruchomienie mechanizmów antyapoptotycznych

[93], które mogą zmniejszać wrażliwość komórek na apoptozę indukowaną szlakiem receptorowym. Na przykład, aktywność kinazy białkowej C ogranicza wiązanie FADD (*FAS-associated death domain*) przy formowaniu DISC [94]. Kinaza SRC może fosforylować prokaspazę 8, ograniczając jej wiązanie i aktywację w DISC [95]. W wyniku aktywnej kaskady kinazy MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) następuje hamowanie cięcia kaspazy 8 [96]. Hamowanie kinazy białkowej CK2 upośledza fosforylację BID i poprawia efektywność cięcia BID przez kaspazę 8 [97, 98]. Wyłączenie sygnału antyapoptotycznego zależnego od kinaz onkogennych może zatem obniżyć próg apoptozy indukowanej przez TRAIL i jego analogi. Sorafenib, inhibitor kinaz tyrozynowych, przełamywał oporność na tigatuzumab poprzez hamowanie aktywacji STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) oraz obniżenie ekspresji regulowanych przez STAT3 białek (m.in. MCL1, surwiwiny i cykliny D1) w komórkach HCC [99, 100]. W liniach komórkowych białaczek sorafenib powodował obniżenie ekspresji MCL1 oraz cFLIP poprzez obniżoną fosforylację czynnika inicjacji translacji eIF4E i w efekcie hamowanie translacji tych białek. W połączeniu z TRAIL sorafenib prowadził do uwolnienia cytochromu c, SMAC i AIF z mitochondrium, aktywacji kaspaz 3, 7, 8 i 9 oraz apoptozy [101]. W badaniach klinicznych II fazy z zastosowaniem sorafenibu i mapatumumabu u chorych na HCC nie obserwowano jednak skuteczności takiego połączenia. Komórki HCC charakteryzują się niską ekspresją receptora DR4, co mogło być przyczyną niepowodzenia w leczeniu [102].

Inkubacja komórek białaczkowych AML z zastosowaniem perifozyny, inhibitora kinazy 3-fosfatydilinozytolu (PI3K, *phosphatidylinositol 3-kinase*) i szlaku AKT (AKT *serine/threonine kinase*) zwiększała wrażliwość na TRAIL, także w komórkach z mutacją TP53. Perifozyna w liniach komórkowych i w komórkach pierwotnych powodowała defosforylację AKT, wzrost ekspresji DR5, obniżenie cFLIP i XIAP, a w konsekwencji apoptozę komórek poddanych działaniu TRAIL [103]. Hamowanie ścieżki sygnałowej AKT innym inhibitorem PI3K, wortmaniną, powodowało zwiększenie wrażliwości na TRAIL odpornej linii komórkowej raka prostaty [104]. Nadekspresja białka BCL2 lub AKT w tych komórkach hamowała ten efekt [104].

### **Połączenia TRAIL i/lub jego analogów z czynnikami indukującymi stres siateczki śródplazmatycznej**

Siateczka śródplazmatyczna to organelum komórki regulujące między innymi syntezę i fałdowanie białek [105]. Stres ER i odpowiedź UPR, oprócz



aktywacji czynników transkrypcyjnych mogących regulować ekspresję receptorów śmierci, wpływają także na zahamowanie translacji i degradację białek w proteasomach, włączając w to białka odpowiadające za oporność na TRAIL [106]. W wyniku stresu ER wykazano zwiększoną wydajność formowania DISC, niższe stężenia cFLIP i MCL1 oraz zwiększoną ekspresję DR5 [106]. Czynniki indukujące stres ER, takie jak tunikamycyna (blokująca N-glikozylację białek) i tapsygargina (hamująca działanie zależnych od ATP kanałów wapniowych w ER), uwrażliwiają na TRAIL komórki raka sutka, szyjki macicy i szpiczakowe [106]. Alfa-TEA (pochodna witaminy E wywołująca stres ER) indukuje apoptozę komórek raka sutka poprzez zwiększanie ekspresji DR5 i hamowanie komórkowego FLIP i BCL2 na ścieżce białka homologicznego C/EBP (*CHOP, C/EPB homologous protein*)/DR5/kaspaza 8 [107]. Czynniki aktywujące stres ER uwrażliwiają na TRAIL także komórki glejakowe, raka jelita grubego, czerniaka oraz raka wątroby [72]. Wykazano jednak, że stres ER uwrażliwia na TRAIL także linię niestransformowanych komórek nabłonkowych, przyczyniając się do wzrostu ekspresji DR5 i zmniejszenia ilości komórkowych FLIP i MCL1 [106]. Z tego powodu włączanie czynników aktywujących stres ER w terapię skojarzoną z TRAIL może nie przynieść pozytywnych efektów i wymaga dalszych badań.

### Perspektywy rozwoju terapii skojarzonych z TRAIL

Mimo długiej już historii rozwoju strategii terapeutycznych opartych na TRAIL i jego analogach, do dziś nie zarejestrowano żadnej z nich we wskazaniach onkologicznych/onkohematologicznych. Chociaż w badaniach przedklinicznych ujawniono wysoki potencjał tych cząstek w zakresie indukowania śmierci komórek, budząc duże nadzieje na skuteczność kliniczną, to badania wczesnych faz ostudziły ten entuzjazm, wskazując, że TRAIL i jego mimetyki cechują liczne ograniczenia zmniejszające skuteczność terapii i ograniczające perspektywy ich stosowania w monoterapii. Do najważniejszych ograniczeń tych strategii należą krótki okres półtrwania TRAIL oraz rozwój oporności komórek nowotworowych. O ile z pierwszym z tych ograniczeń stosunkowo łatwo można sobie radzić dzięki stosowaniu rekombinowanych mimetyków, o tyle oporność pierwotna lub rozwój oporności wtórnej stanowią złożony problem, który nie ma uniwersalnego rozwiązania. Złożoność i redundancja mechanizmów oporności wykluczają

proste odpowiedzi na pytania o farmakologiczne sposoby uwrażliwiania komórek na te ligandy. Z jednej strony na podstawie przeprowadzonych badań wydaje się mało prawdopodobne, by oporność na TRAIL można było modulować w sposób schematyczny, ponieważ nawet w obrębie jednego typu nowotworu mechanizmy oporności mogą być zróżnicowane i się równolegle uzupełniać. Z drugiej strony analogi TRAIL charakteryzują się bardzo pożądaną z klinicznego punktu widzenia cechą — zwykle charakteryzowały się niską lub bardzo niską toksycznością, a w związku z tym dużym potencjałem łączenia z lekami/związkami o innych mechanizmach działania, w tym także konwencjonalnymi lekami cytostatycznymi/cytotoksycznymi.

Wydaje się zatem, że strategia rozwoju terapii opartych na TRAIL lub jego analogach powinna uwzględniać przynajmniej trzy przesłanki. Po pierwsze, rozwój tych strategii powinien obejmować nowotwory o niskim „progu apoptotycznym”. Stan ten, wynikający między innymi z funkcjonalnych bloków w szlaku transdukcji sygnału apoptotycznego [108], powoduje, że komórki stosunkowo łatwo przekraczają ten próg i są kierowane na drogę apoptozy. Do takich nowotworów należą między innymi niektóre chłoniaki B-komórkowe. Drugą przesłanką jest dążenie do maksymalizacji pierwotnej odpowiedzi, a więc zabicie komórek nowotworowych szybko, zanim powstaną wtórne mechanizmy oporności. Ten warunek można spełnić przez rozwój analogów TRAIL o wyższej aktywności lub/i poprzez stosowanie racjonalnych połączeń i synergii farmakologicznych. Trzecią przesłanką jest wykluczanie z badań chorych z biomarkerami oporności — na przykład chorych z niską ekspresją receptorów śmierci, którzy nie mają szans na odniesienie korzyści ze stosowania leku poprzez nie działającego. Lista tych trzech warunków, choć może zostać rozszerzona i uzupełniona w przyszłości, może być punktem wyjścia dla projektowania badań o większym prawdopodobieństwie powodzenia.

### Podziękowania

Niniejsza praca powstała w ramach realizacji projektu NCBiR nr STRATEGMED2/265566/6/NCBR/2015 pt.: Badania przedkliniczne i kliniczne nad przeciwnowotworowym działaniem nowej cząsteczki, pochodnej TRAIL, ukierunkowanej na sygnalizację śmierci komórki — powołanie krajowego ośrodka badań klinicznych wczesnej fazy w onkologii, ONCOTRAIL, Program STRATEGMED II.

## Piśmiennictwo

1. Wiley SR, Schooley K, Smolak P, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*. 1995; 3(6): 673–682, doi: [10.1016/1074-7613\(95\)90057-8](#), indexed in Pubmed: [8777713](#).
2. Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, et al. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem*. 1996; 271(22): 12687–12690, doi: [10.1074/jbc.271.22.12687](#), indexed in Pubmed: [8663110](#).
3. Walczak H, Miller RE, Ariail K, et al. Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo. *Nat Med*. 1999; 5(2): 157–163, doi: [10.1038/5517](#), indexed in Pubmed: [9930862](#).
4. Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, et al. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest*. 1999; 104(2): 155–162, doi: [10.1172/JCI6926](#), indexed in Pubmed: [10411544](#).
5. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, et al. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J*. 1995; 14(22): 5579–5588, indexed in Pubmed: [8521815](#).
6. Stennicke HR, Jürgensmeier JM, Shin H, et al. Pro-caspase-3 is a major physiologic target of caspase-8. *J Biol Chem*. 1998; 273(42): 27084–27090, doi: [10.1074/jbc.273.42.27084](#), indexed in Pubmed: [9765224](#).
7. Jost PJ, Grabow S, Gray D, et al. XIAP discriminates between type I and type II FAS-induced apoptosis. *Nature*. 2009; 460(7258): 1035–1039, doi: [10.1038/nature08229](#), indexed in Pubmed: [19626005](#).
8. Lindsten T, Ross A, King A, et al. The combined functions of proapoptotic Bcl-2 family members Bak and Bax are essential for normal development of multiple tissues. *Molecular Cell*. 2000; 6(6): 1389–1399, doi: [10.1016/s1097-2765\(00\)00136-2](#), indexed in Pubmed: [11163212](#).
9. Arnoult D. Mitochondrial release of AIF and EndoG requires caspase activation downstream of Bax/Bak-mediated permeabilization. *EMBO J*. 2003; 22(17): 4385–4399, doi: [10.1093/emboj/cdg423](#), indexed in Pubmed: [12941691](#).
10. Abdulghani J, El-Deiry WS. TRAIL receptor signaling and therapeutics. *Expert Opin Ther Targets*. 2010; 14(10): 1091–1108, doi: [10.1517/14728222.2010.519701](#), indexed in Pubmed: [20819019](#).
11. Carlo-Stella C, Lavazza C, Locatelli A, et al. Targeting TRAIL agonistic receptors for cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2007; 13(8): 2313–2317, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-06-2774](#), indexed in Pubmed: [17438088](#).
12. Herbst RS, Eckhardt SG, Kurzrock R, et al. Phase I dose-escalation study of recombinant human Apo2L/TRAIL, a dual proapoptotic receptor agonist, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol*. 2010; 28(17): 2839–2846, doi: [10.1200/JCO.2009.25.1991](#), indexed in Pubmed: [20458040](#).
13. Hottel SJ, Hirte HW, Chen EX, et al. A phase 1 study of mapatumumab (fully human monoclonal antibody to TRAIL-R1) in patients with advanced solid malignancies. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(11): 3450–3455, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-07-1416](#), indexed in Pubmed: [18519776](#).
14. Younes A, Vose JM, Zelenetz AD, et al. A Phase 1b/2 trial of mapatumumab in patients with relapsed/refractory non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer*. 2010; 103(12): 1783–1787, doi: [10.1038/sj.bjc.6605987](#), indexed in Pubmed: [21081929](#).
15. Rosevear HM, Lightfoot AJ, Griffith TS. Conatumumab, a fully human mAb against death receptor 5 for the treatment of cancer. *Curr Opin Investig Drugs*. 2010; 11(6): 688–698, indexed in Pubmed: [20496264](#).
16. Forero-Torres A, Shah J, Wood T, et al. Phase I trial of weekly tigatuzumab, an agonistic humanized monoclonal antibody targeting death receptor 5 (DR5). *Cancer Biother Radiopharm*. 2010; 25(1): 13–19, doi: [10.1089/cbr.2009.0673](#), indexed in Pubmed: [20187792](#).
17. Camidge DR, Herbst RS, Gordon MS, et al. A phase I safety and pharmacokinetic study of the death receptor 5 agonistic antibody PRO95780 in patients with advanced malignancies. *Clin Cancer Res*. 2010; 16(4): 1256–1263, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-09-1267](#), indexed in Pubmed: [20145186](#).
18. Plummer R, Attard G, Pacey S, et al. Phase 1 and pharmacokinetic study of lexatumumab in patients with advanced cancers. *Clin Cancer Res*. 2007; 13(20): 6187–6194, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-07-0950](#), indexed in Pubmed: [17947486](#).
19. Tahir SK, Smith ML, Solomon LR, et al. Abbv-621 is a novel and potent TRAIL receptor agonist fusion protein that induces apoptosis alone and in combination with navitoclax and venetoclax in hematological tumors. *Blood*. 2017; 130(Suppl 1).
20. Green DR, Evan G. A matter of life and death. *Cancer Cell*. 2002; 1(1): 19–30, doi: [10.1016/s1535-6108\(02\)00024-7](#), indexed in Pubmed: [12086884](#).
21. Wagner KW, King F, Nomoto K, et al. Activation and suppression of the TRAIL death-receptor pathway in chemotherapy sensitive and resistant follicular lymphoma cells. *Cancer Biol Ther*. 2003; 2(5): 534–540, doi: [10.4161/cbt.2.5.453](#), indexed in Pubmed: [14614322](#).
22. Yu J, Zhang L. PUMA, a potent killer with or without p53. *Oncogene*. 2008; 27(Suppl 1): S71–S83, doi: [10.1038/onc.2009.45](#), indexed in Pubmed: [19641508](#).
23. Hellwig CT, Rehm M. TRAIL signaling and synergy mechanisms used in TRAIL-based combination therapies. *Mol Cancer Ther*. 2012; 11(1): 3–13, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-11-0434](#), indexed in Pubmed: [22234808](#).
24. Prokocimer M, Molchadsky A, Rotter V. Dysfunctional diversity of p53 proteins in adult acute myeloid leukemia: projections on diagnostic workup and therapy. *Blood*. 2017; 130(6): 699–712, doi: [10.1182/blood-2017-02-763086](#), indexed in Pubmed: [28607134](#).
25. Jiang H, Reinhardt HC, Bartkova J, et al. The combined status of ATM and p53 link tumor development with therapeutic response. *Genes Dev*. 2009; 23(16): 1895–1909, doi: [10.1101/gad.1815309](#), indexed in Pubmed: [19608766](#).
26. Weber AM, Ryan AJ. ATM and ATR as therapeutic targets in cancer. *Pharmacol Ther*. 2015; 149: 124–138, doi: [10.1016/j.pharmthera.2014.12.001](#), indexed in Pubmed: [25512053](#).
27. Wade M, Li YC, Wahl GM. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13(2): 83–96, doi: [10.1038/nrc3430](#), indexed in Pubmed: [23303139](#).
28. Baritaki S, Huerta-Yepez S, Sakai T, et al. Chemotherapeutic drugs sensitize cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis: up-regulation of DR5 and inhibition of Yin Yang 1. *Mol Cancer Ther*. 2007; 6(4): 1387–1399, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-06-0521](#), indexed in Pubmed: [17431117](#).
29. Ganten TM, Haas TL, Sykora J, et al. Enhanced caspase-8 recruitment to and activation at the DISC is critical for sensitization of human hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by chemotherapeutic drugs. *Cell Death Differ*. 2004; 11(Suppl 1): S86–S96, doi: [10.1038/sj.cdd.4401437](#), indexed in Pubmed: [15105837](#).

30. Soria JC, Márk Z, Zatloukal P, et al. Randomized phase II study of dulanermin in combination with paclitaxel, carboplatin, and bevacizumab in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2011; 29(33): 4442–4451, doi: [10.1200/JCO.2011.37.2623](https://doi.org/10.1200/JCO.2011.37.2623), indexed in Pubmed: [22010015](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22010015/).
31. Leong S, Cohen RB, Gustafson DL, et al. Mapatumumab, an antibody targeting TRAIL-R1, in combination with paclitaxel and carboplatin in patients with advanced solid malignancies: results of a phase I and pharmacokinetic study. *J Clin Oncol*. 2009; 27(26): 4413–4421, doi: [10.1200/JCO.2008.21.7422](https://doi.org/10.1200/JCO.2008.21.7422), indexed in Pubmed: [19652058](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19652058/).
32. Mom CH, Verweij J, Oldenhuis CN, et al. Mapatumumab, a fully human agonistic monoclonal antibody that targets TRAIL-R1, in combination with gemcitabine and cisplatin: a phase I study. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(17): 5584–5590, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-09-0996](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0996), indexed in Pubmed: [19690193](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19690193/).
33. Reck M, Krzakowski M, Chmielowska E, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 study of tigatuzumab (CS-1008) in combination with carboplatin/paclitaxel in patients with chemotherapy-naïve metastatic/unresectable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2013; 82(3): 441–448, doi: [10.1016/j.lungcan.2013.09.014](https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2013.09.014), indexed in Pubmed: [24148258](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24148258/).
34. Kindler HL, Richards DA, Garbo LE, et al. A randomized, placebo-controlled phase 2 study of ganitumab (AMG 479) or conatumumab (AMG 655) in combination with gemcitabine in patients with metastatic pancreatic cancer. *Ann Oncol*. 2012; 23(11): 2834–2842, doi: [10.1093/annonc/mds142](https://doi.org/10.1093/annonc/mds142), indexed in Pubmed: [22700995](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22700995/).
35. Chinnaiyan AM, Prasad U, Shankar S, et al. Combined effect of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and ionizing radiation in breast cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97(4): 1754–1759, doi: [10.1073/pnas.030545097](https://doi.org/10.1073/pnas.030545097), indexed in Pubmed: [10677530](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10677530/).
36. Maduro JH, de Vries EGE, Meersma GJ, et al. Targeting pro-apoptotic trail receptors sensitizes HeLa cervical cancer cells to irradiation-induced apoptosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008; 72(2): 543–552, doi: [10.1016/j.ijrobp.2008.06.1902](https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2008.06.1902), indexed in Pubmed: [18793956](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18793956/).
37. Norbury CJ, Zhivotovsky B. DNA damage-induced apoptosis. *Oncogene*. 2004; 23(16): 2797–2808, doi: [10.1038/sj.onc.1207532](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207532), indexed in Pubmed: [15077143](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15077143/).
38. Vogler M, Dinsdale D, Dyer MJS, et al. Bcl-2 inhibitors: small molecules with a big impact on cancer therapy. *Cell Death Differ*. 2009; 16(3): 360–367, doi: [10.1038/cdd.2008.137](https://doi.org/10.1038/cdd.2008.137), indexed in Pubmed: [18806758](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18806758/).
39. Mott JL, Bronk SF, Mesa RA, et al. BH3-only protein mimetic obatoclax sensitizes cholangiocarcinoma cells to Apo2L/TRAIL-induced apoptosis. *Mol Cancer Ther*. 2008; 7(8): 2339–2347, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-08-0285](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0285), indexed in Pubmed: [18723481](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18723481/).
40. Huang S, Okumura K, Sinicrope FA. BH3 mimetic obatoclax enhances TRAIL-mediated apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(1): 150–159, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-08-1575](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1575), indexed in Pubmed: [19118042](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19118042/).
41. Song JH, Kandasamy K, Kraft AS. ABT-737 induces expression of the death receptor 5 and sensitizes human cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 2008; 283(36): 25003–25013, doi: [10.1074/jbc.M802511200](https://doi.org/10.1074/jbc.M802511200), indexed in Pubmed: [18599488](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18599488/).
42. Kisim A, Atmaca H, Cakar B, et al. Pretreatment with AT-101 enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis of breast cancer cells by inducing death receptors 4 and 5 protein levels. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012; 138(7): 1155–1163, doi: [10.1007/s00432-012-1187-1](https://doi.org/10.1007/s00432-012-1187-1), indexed in Pubmed: [22411600](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22411600/).
43. Wang G, Zhan Y, Wang H, et al. ABT-263 sensitizes TRAIL-resistant hepatocarcinoma cells by downregulating the Bcl-2 family of anti-apoptotic protein. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012; 69(3): 799–805, doi: [10.1007/s00280-011-1763-0](https://doi.org/10.1007/s00280-011-1763-0), indexed in Pubmed: [22037880](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22037880/).
44. Yeow WC, Baras A, Chua A, et al. Gossypol, a phytochemical with BH3-mimetic property, sensitizes cultured thoracic cancer cells to Apo2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006; 132(6): 1356–1362, doi: [10.1016/j.jtcvs.2006.07.025](https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2006.07.025), indexed in Pubmed: [17140955](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17140955/).
45. Fresquet V, Rieger M, Carolis C, et al. Acquired mutations in BCL2 family proteins conferring resistance to the BH3 mimetic ABT-199 in lymphoma. *Blood*. 2014; 123(26): 4111–4119, doi: [10.1182/blood-2014-03-560284](https://doi.org/10.1182/blood-2014-03-560284), indexed in Pubmed: [24786774](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24786774/).
46. Menke C, Bin L, Thorburn J, et al. Distinct TRAIL resistance mechanisms can be overcome by proteasome inhibition but not generally by synergizing agents. *Cancer Res*. 2011; 71(5): 1883–1892, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-10-2252](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2252), indexed in Pubmed: [21363923](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21363923/).
47. Degli-Esposti MA, Dougall W, Smolak P, et al. The novel receptor TRAIL-R4 induces NF- $\kappa$ B and protects against TRAIL-mediated apoptosis, yet retains an incomplete death domain. *Immunity*. 1997; 7(6): 813–820, doi: [10.1016/s1074-7613\(00\)80399-4](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80399-4).
48. Cusack JC, Liu R, Houston M. Proteasome inhibition in cancer: development of PS-341. *Cancer Res*. 2001; 61(9): 3535–3540, indexed in Pubmed: [11325813](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11325813/).
49. Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*. 2011; 334(6059): 1081–1086, doi: [10.1126/science.1209038](https://doi.org/10.1126/science.1209038), indexed in Pubmed: [22116877](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22116877/).
50. Koschny R, Ganten TM, Sykora J, et al. TRAIL/bortezomib cotreatment is potentially hepatotoxic but induces cancer-specific apoptosis within a therapeutic window. *Hepatology*. 2007; 45(3): 649–658, doi: [10.1002/hep.21555](https://doi.org/10.1002/hep.21555), indexed in Pubmed: [17326159](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17326159/).
51. Liu X, Yue P, Chen S, et al. The proteasome inhibitor PS-341 (bortezomib) up-regulates DR5 expression leading to induction of apoptosis and enhancement of TRAIL-induced apoptosis despite up-regulation of c-FLIP and survivin expression in human NSCLC cells. *Cancer Res*. 2007; 67(10): 4981–4988, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-06-4274](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-4274), indexed in Pubmed: [17510429](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17510429/).
52. Voortman J, Resende TP, Abou El Hassan MAI, et al. TRAIL therapy in non-small cell lung cancer cells: sensitization to death receptor-mediated apoptosis by proteasome inhibitor bortezomib. *Mol Cancer Ther*. 2007; 6(7): 2103–2112, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-07-0167](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-07-0167), indexed in Pubmed: [17620439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17620439/).
53. Conticello C, Adamo L, Vicari L, et al. Antitumor activity of bortezomib alone and in combination with TRAIL in human acute myeloid leukemia. *Acta Haematol*. 2008; 120(1): 19–30, doi: [10.1159/000151511](https://doi.org/10.1159/000151511), indexed in Pubmed: [18716397](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18716397/).
54. Jane EP, Premkumar DR, Pollack IF. Bortezomib sensitizes malignant human glioma cells to TRAIL, mediated by inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Mol Cancer Ther*. 2011; 10(1): 198–208, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-10-0725](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0725), indexed in Pubmed: [21220502](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21220502/).
55. Belch A, Sharma A, Spencer A, et al. A multicenter randomized phase II trial of mapatumumab, a TRAIL-R1 agonist monoclonal antibody, in combination with bortezomib in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (MM). *Blood*. 2010; 116(21): 5031–5031, doi: [10.1182/blood.v116.21.5031.5031](https://doi.org/10.1182/blood.v116.21.5031.5031).

56. Younes A, Kirschbaum M, Sokol L, et al. Safety and tolerability of conatumumab in combination with bortezomib or vorinostat in patients with relapsed or refractory lymphoma. *Blood*. 2009; 114(22): 1708–1708, doi: [10.1182/blood.v114.22.1708.1708](https://doi.org/10.1182/blood.v114.22.1708.1708).
57. Finlay D, Teriete P, Vámos M, et al. Inducing death in tumor cells: roles of the inhibitor of apoptosis proteins. *F1000Res*. 2017; 6: 587, doi: [10.12688/f1000research.10625.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.10625.1), indexed in Pubmed: [28529715](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28529715/).
58. Vince JE, Wong WWL, Khan N, et al. IAP antagonists target cIAP1 to induce TNF $\alpha$ -dependent apoptosis. *Cell*. 2007; 131(4): 682–693, doi: [10.1016/j.cell.2007.10.037](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.037), indexed in Pubmed: [18022363](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18022363/).
59. Varfolomeev E, Blankenship JW, Wayson SM. IAP antagonists induce autoubiquitination of c-IAPs, NF- $\kappa$ B activation, and TNF $\alpha$ -dependent apoptosis. *Cell*. 2007; 131(4): 669–681, doi: [10.1016/j.cell.2007.10.030](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.030), indexed in Pubmed: [18022362](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18022362/).
60. Fulda S, Wick W, Weller M, et al. Smac agonists sensitize for Apo2L/TRAIL- or anticancer drug-induced apoptosis and induce regression of malignant glioma in vivo. *Nat Med*. 2002; 8(8): 808–815, doi: [10.1038/nm735](https://doi.org/10.1038/nm735), indexed in Pubmed: [12118245](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12118245/).
61. Beug ST, Tang VA, LaCasse EC, et al. Smac mimetics and innate immune stimuli synergize to promote tumor death. *Nat Biotechnol*. 2014; 32(2): 182–190, doi: [10.1038/nbt.2806](https://doi.org/10.1038/nbt.2806), indexed in Pubmed: [24463573](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24463573/).
62. Lu J, McEachern D, Sun H, et al. Therapeutic potential and molecular mechanism of a novel, potent, nonpeptide, Smac mimetic SM-164 in combination with TRAIL for cancer treatment. *Mol Cancer Ther*. 2011; 10(5): 902–914, doi: [10.1158/1535-7163.MCT-10-0864](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0864), indexed in Pubmed: [21372226](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21372226/).
63. Stadel D, Mohr A, Ref C, et al. TRAIL-induced apoptosis is preferentially mediated via TRAIL receptor 1 in pancreatic carcinoma cells and profoundly enhanced by XIAP inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2010; 16(23): 5734–5749, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-10-0985](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0985), indexed in Pubmed: [20940278](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20940278/).
64. Perimenis P, Galaris A, Voulgari A, et al. IAP antagonists birinapant and AT-406 efficiently synergise with either TRAIL, BRAF or BCL-2 inhibitors to sensitise BRAFV600E colorectal tumour cells to apoptosis. *BMC Cancer*. 2016; 16: 624, doi: [10.1186/s12885-016-2606-5](https://doi.org/10.1186/s12885-016-2606-5), indexed in Pubmed: [27520705](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27520705/).
65. Bae SI, Cheriya V, Jacobs BS, et al. Reversal of methylation silencing of Apo2L/TRAIL receptor 1 (DR4) expression overcomes resistance of SK-MEL-3 and SK-MEL-28 melanoma cells to interferons (IFNs) or Apo2L/TRAIL. *Oncogene*. 2008; 27(4): 490–498, doi: [10.1038/sj.onc.1210655](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210655), indexed in Pubmed: [17653094](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17653094/).
66. Hopkins-Donaldson S, Ziegler A, Kurtz S, et al. Silencing of death receptor and caspase-8 expression in small cell lung carcinoma cell lines and tumors by DNA methylation. *Cell Death Differ*. 2003; 10(3): 356–364, doi: [10.1038/sj.cdd.4401157](https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401157), indexed in Pubmed: [12700635](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12700635/).
67. Siraj AK, Hussain AR, Al-Rasheed M, et al. Demethylation of TMS1 gene sensitizes thyroid cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(1): E215–E224, doi: [10.1210/jc.2010-0790](https://doi.org/10.1210/jc.2010-0790), indexed in Pubmed: [20926535](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20926535/).
68. Gray SG, Ekström TJ. The human histone deacetylase family. *Exp Cell Res*. 2001; 262(2): 75–83, doi: [10.1006/excr.2000.5080](https://doi.org/10.1006/excr.2000.5080), indexed in Pubmed: [11139331](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11139331/).
69. Ki HJ, Bae SC. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am J Transl Res*. 2011; 3(2): 166–179, indexed in Pubmed: [21416059](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21416059/).
70. Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2006; 5(9): 769–784, doi: [10.1038/nrd2133](https://doi.org/10.1038/nrd2133), indexed in Pubmed: [16955068](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16955068/).
71. Fulda S. Modulation of TRAIL-induced apoptosis by HDAC inhibitors. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008; 8(2): 132–140, doi: [10.2174/156800908783769355](https://doi.org/10.2174/156800908783769355), indexed in Pubmed: [18336196](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18336196/).
72. Trivedi R, Mishra DP. Trailing TRAIL resistance: novel targets for TRAIL sensitization in cancer cells. *Front Oncol*. 2015; 5: 69, doi: [10.3389/fonc.2015.00069](https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00069), indexed in Pubmed: [25883904](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25883904/).
73. Guo F, Sigua C, Tao J, et al. Cotreatment with histone deacetylase inhibitor LAQ824 enhances Apo-2L/tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand-induced death inducing signaling complex activity and apoptosis of human acute leukemia cells. *Cancer Res*. 2004; 64(7): 2580–2589, doi: [10.1158/0008-5472.can-03-2629](https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-03-2629), indexed in Pubmed: [15059915](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15059915/).
74. Venza I, Visalli M, Oteri R, et al. Class I-specific histone deacetylase inhibitor MS-275 overrides TRAIL-resistance in melanoma cells by downregulating c-FLIP. *Int Immunopharmacol*. 2014; 21(2): 439–446, doi: [10.1016/j.intimp.2014.05.024](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.05.024), indexed in Pubmed: [24946096](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24946096/).
75. Häcker S, Dittrich A, Mohr A, et al. Histone deacetylase inhibitors cooperate with IFN- $\gamma$  to restore caspase-8 expression and overcome TRAIL resistance in cancers with silencing of caspase-8. *Oncogene*. 2009; 28(35): 3097–3110, doi: [10.1038/onc.2009.161](https://doi.org/10.1038/onc.2009.161), indexed in Pubmed: [19597472](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19597472/).
76. Fulda S. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors and regulation of TRAIL-induced apoptosis. *Exp Cell Res*. 2012; 318(11): 1208–1212, doi: [10.1016/j.yexcr.2012.02.005](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.02.005), indexed in Pubmed: [22366288](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22366288/).
77. Reddy RM, Yeow WS, Chua A, et al. Rapid and profound potentiation of Apo2L/TRAIL-mediated cytotoxicity and apoptosis in thoracic cancer cells by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A: the essential role of the mitochondria-mediated caspase activation cascade. *Apoptosis*. 2007; 12(1): 71–71, doi: [10.1007/s10495-006-0484-z](https://doi.org/10.1007/s10495-006-0484-z), indexed in Pubmed: [17136498](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17136498/).
78. Rosato RR, Almenara JA, Dai Y, et al. Simultaneous activation of the intrinsic and extrinsic pathways by histone deacetylase (HDAC) inhibitors and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) synergistically induces mitochondrial damage and apoptosis in human leukemia cells. *Mol Cancer Ther*. 2003; 2(12): 1273–1284, indexed in Pubmed: [14707268](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14707268/).
79. Ziauddin MF, Yeow WS, Maxhimer JB, et al. Valproic acid, an antiepileptic drug with histone deacetylase inhibitory activity, potentiates the cytotoxic effect of Apo2L/TRAIL on cultured thoracic cancer cells through mitochondria-dependent caspase activation. *Neoplasia*. 2006; 8(6): 446–457, doi: [10.1593/neo.05823](https://doi.org/10.1593/neo.05823), indexed in Pubmed: [16820090](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16820090/).
80. Twomey JD, Kim SR, Zhao L, et al. Spatial dynamics of TRAIL death receptors in cancer cells. *Drug Resist Updat*. 2015; 19: 13–21, doi: [10.1016/j.drug.2015.02.001](https://doi.org/10.1016/j.drug.2015.02.001), indexed in Pubmed: [25840763](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25840763/).
81. Yoshida T, Zhang Y, Rivera Rosado LA, et al. Repeated treatment with subtoxic doses of TRAIL induces resistance to apoptosis through its death receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Mol Cancer Res*. 2009; 7(11): 1835–1844, doi: [10.1158/1541-7786.MCR-09-0244](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-09-0244), indexed in Pubmed: [19843632](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19843632/).
82. Zhang Y, Yoshida T, Zhang B. TRAIL induces endocytosis of its death receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Biol Ther*. 2009; 8(10): 917–922, doi: [10.4161/cbt.8.10.8141](https://doi.org/10.4161/cbt.8.10.8141), indexed in Pubmed: [19270498](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19270498/).
83. Kohlhaas SL, Craxton A, Sun XM, et al. Receptor-mediated endocytosis is not required for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 2007; 282(17): 12831–12841, doi: [10.1074/jbc.M700438200](https://doi.org/10.1074/jbc.M700438200), indexed in Pubmed: [17327223](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17327223/).



84. Reis CR, Chen PH, Bendris N, et al. TRAIL-death receptor endocytosis and apoptosis are selectively regulated by dynamin-1 activation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114(3): 504–509, doi: [10.1073/pnas.1615072114](#), indexed in Pubmed: 28049841.
85. Wang LH, Rothberg KG, Anderson RG. Mis-assembly of clathrin lattices on endosomes reveals a regulatory switch for coated pit formation. *J Cell Biol*. 1993; 123(5): 1107–1117, doi: [10.1083/jcb.123.5.1107](#), indexed in Pubmed: 8245121.
86. McGookey DJ, Fagerberg K, Anderson RG. Filipin-cholesterol complexes form in uncoated vesicle membrane derived from coated vesicles during receptor-mediated endocytosis of low density lipoprotein. *J Cell Biol*. 1983; 96(5): 1273–1278, doi: [10.1083/jcb.96.5.1273](#), indexed in Pubmed: 6132922.
87. Kilsdonk EP, Yancey PG, Stoudt GW, et al. Cellular cholesterol efflux mediated by cyclodextrins. *J Biol Chem*. 1995; 270(29): 17250–17256, doi: [10.1074/jbc.270.29.17250](#), indexed in Pubmed: 7615524.
88. Zhang Y, Zhang B. TRAIL resistance of breast cancer cells is associated with constitutive endocytosis of death receptors 4 and 5. *Mol Cancer Res*. 2008; 6(12): 1861–1871, doi: [10.1158/1541-7786.MCR-08-0313](#), indexed in Pubmed: 19074831.
89. Macia E, Ehrlich M, Massol R, et al. Dynasore, a cell-permeable inhibitor of dynamin. *Dev Cell*. 2006; 10(6): 839–850, doi: [10.1016/j.devcel.2006.04.002](#), indexed in Pubmed: 16740485.
90. Hill TA, Gordon CP, McGeachie AB, et al. Inhibition of dynamin mediated endocytosis by the dynoles — synthesis and functional activity of a family of indoles. *J Med Chem*. 2009; 52(12): 3762–3773, doi: [10.1021/jm900036m](#), indexed in Pubmed: 19459681.
91. von Kleist L, Stahlschmidt W, Bulut H, et al. Role of the clathrin terminal domain in regulating coated pit dynamics revealed by small molecule inhibition. *Cell*. 2011; 146(3): 471–484, doi: [10.1016/j.cell.2011.06.025](#), indexed in Pubmed: 21816279.
92. Dutta D, Donaldson JG. Search for inhibitors of endocytosis: Intended specificity and unintended consequences. *Cell Logist*. 2012; 2(4): 203–208, doi: [10.4161/cl.23967](#), indexed in Pubmed: 23538558.
93. Paul MK, Mukhopadhyay AK. Tyrosine kinase — role and significance in cancer. *Int J Med Sci*. 2004; 1(2): 101–115, doi: [10.7150/ijms.1.101](#), indexed in Pubmed: 15912202.
94. Harper N, Hughes MA, Farrow SN, et al. Protein kinase C modulates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by targeting the apical events of death receptor signaling. *J Biol Chem*. 2003; 278(45): 44338–44347, doi: [10.1074/jbc.M307376200](#), indexed in Pubmed: 12920112.
95. Cursi S, Rufini A, Stagni V, et al. Src kinase phosphorylates caspase-8 on Tyr380: a novel mechanism of apoptosis suppression. *EMBO J*. 2006; 25(9): 1895–1905, doi: [10.1038/sj.emboj.7601085](#), indexed in Pubmed: 16619028.
96. Söderström TS, Poukkula M, Holmström TH, et al. Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase signaling in activated T cells abrogates TRAIL-induced apoptosis upstream of the mitochondrial amplification loop and caspase-8. *J Immunol*. 2002; 169(6): 2851–2860, doi: [10.4049/jimmunol.169.6.2851](#), indexed in Pubmed: 12218097.
97. Desagher S, Osen-Sand A, Montessuit S, et al. Phosphorylation of bid by casein kinases I and II regulates its cleavage by caspase 8. *Molecular Cell*. 2001; 8(3): 601–611, doi: [10.1016/S1097-2765\(01\)00335-5](#).
98. Hellwig CT, Ludwig-Galezowska AH, Concannon CG, et al. Activity of protein kinase CK2 uncouples Bid cleavage from caspase-8 activation. *J Cell Sci*. 2010; 123(Pt 9): 1401–1406, doi: [10.1242/jcs.061143](#), indexed in Pubmed: 20356928.
99. Chen KF, Tai WT, Liu TH, et al. Sorafenib overcomes TRAIL resistance of hepatocellular carcinoma cells through the inhibition of STAT3. *Clin Cancer Res*. 2010; 16(21): 5189–5199, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-09-3389](#), indexed in Pubmed: 20884624.
100. Chen KF, Chen HL, Shiao CW, et al. Sorafenib and its derivative SC-49 sensitize hepatocellular carcinoma cells to CS-1008, a humanized anti-TNFRSF10B (DR5) antibody. *Br J Pharmacol*. 2013; 168(3): 658–672, doi: [10.1111/j.1476-5381.2012.02212.x](#), indexed in Pubmed: 22978563.
101. Rosato RR, Almenara JA, Coe S, et al. The multikinase inhibitor sorafenib potentiates TRAIL lethality in human leukemia cells in association with Mcl-1 and cFLIPL down-regulation. *Cancer Res*. 2007; 67(19): 9490–9500, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-07-0598](#), indexed in Pubmed: 17909059.
102. Ciuleanu T, Bazin I, Lungulescu D, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II study to assess the efficacy and safety of mapatumumab with sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol*. 2016; 27(4): 680–687, doi: [10.1093/annonc/mdw004](#), indexed in Pubmed: 26802147.
103. Tazzari PL, Tabellini G, Ricci F, et al. Synergistic proapoptotic activity of recombinant TRAIL plus the Akt inhibitor Perifosine in acute myelogenous leukemia cells. *Cancer Res*. 2008; 68(22): 9394–9403, doi: [10.1158/0008-5472.CAN-08-2815](#), indexed in Pubmed: 19010914.
104. Nesterov A, Lu X, Johnson M, et al. Elevated AKT activity protects the prostate cancer cell line LNCaP from TRAIL-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 2001; 276(14): 10767–10774, doi: [10.1074/jbc.M005196200](#), indexed in Pubmed: 11278284.
105. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, et al. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep*. 2006; 7(9): 880–885, doi: [10.1038/sj.embor.7400779](#), indexed in Pubmed: 16953201.
106. Martín-Pérez R, Niwa M, López-Rivas A. ER stress sensitizes cells to TRAIL through down-regulation of FLIP and Mcl-1 and PERK-dependent up-regulation of TRAIL-R2. *Apoptosis*. 2012; 17(4): 349–363, doi: [10.1007/s10495-011-0673-2](#), indexed in Pubmed: 22072062.
107. Tiwary R, Yu W, Li J, et al. Role of endoplasmic reticulum stress in alpha-TEA mediated TRAIL/DR5 death receptor dependent apoptosis. *PLoS One*. 2010; 5(7): e11865, doi: [10.1371/journal.pone.0011865](#), indexed in Pubmed: 20686688.
108. Letai AG. Diagnosing and exploiting cancer's addiction to blocks in apoptosis. *Nat Rev Cancer*. 2008; 8(2): 121–132, doi: [10.1038/nrc2297](#), indexed in Pubmed: 18202696.